Aus der II. medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. A. Schittenhelm

Kritische Untersuchungen über die gebräuchlichen Blutjod-Bestimmungsmethoden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

Verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Dr. phil. Walter Vöhringer
aus Brackenheim (Wttbg.)

1937

Druckerei und Verlagsanstalt Bayerland, Anton Steigenberger Dachau

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

In den vielen Untersuchungen von Schittenhelm und Eisler[1]) wurden die Grundlagen der hormonalen und nervösen Steuerung des Jodstoffwechsels im menschlichen Organismus dargelegt. Bei allen diesen Untersuchungen diente zur Bestimmung des Jodgehaltes im Blut und in Organen die Methode nach v. Fellenberg[9]). Durch zahlreiche Kontrollanalysen war seinerzeit festgestellt worden, daß die „v. Fellenberg'sche Methode, falls sie mit höchstmöglicher Genauigkeit und unter Innehaltung aller notwendigen analytischen Regeln angewandt wird, Ergebnisse liefert, die in jeder Beziehung befriedigend sind. In Doppelbestimmungen erhalten wir als größte Abweichung 3%, in Bestimmungen mit eingewogenen Mengen (KJ, Thyroxin, Dijodtyrosin, Jodeiweißverbindungen, Dijodyl usw.) Abweichungen vom berechneten Wert, die 10% in keinem Fall überschreiten."

Diese Ergebnisse hatten die Grundlage für alle Untersuchungen über den Jodstoffwechsel an unserer Klinik bisher gebildet. Seit einigen Jahren werden die Werte, die man mit dieser Methode erhält, in vielen Veröffentlichungen angegriffen, da im Arbeitsgang dieser Methode unkontrollierbare Verluste eintreten sollen. Und von vielen Kritikern werden zur Stützung ihrer Ergebnisse neue Methoden oder Abänderungen bestehender Methoden angegeben, mit denen allein angeblich richtige Resultate zu erhalten seien. Ja, es haben sich in letzter Zeit die Veröffentlichungen über neue Bestimmungsmethoden im In- und Ausland geradezu überstürzt. Um nur einige zu nennen: Turner[2]), H. A. S. Aitken[3]), E. Baumann u. N. Metzger[4]), Perkin[5]), Hamilton[6]), Mc. Cullag[7]), Döring[8]), Pellucci und Vigni[10]), Nunez und Regidor[11]).

Bei Vergleich der Untersuchungsergebnisse der verschiedenen Autoren lassen sich folgende Punkte als wesentlich herausstellen:

1. Mit jeder Methode werden bei Doppelbestimmungen von Blutjod gleichmäßige Werte erhalten und Jodzusätze jeglicher Art werden mit genügender Genauigkeit wieder gefunden.

2. Die mit den verschiedenen Methoden erhaltenen Werte differieren aber unter sich sehr stark:

Als Normalwerte gibt an v. Fellenberg[9]) 8—15 γ %, Leipert[13]) 13 ± 4 γ %, Löhr[14]) 20—30 γ %, Wilmanns[15]) 7—15 γ %, Lücker[16]) 20—40 γ %, Widmann[17]) 23 γ %, Pfeiffer[12]) 25—30 γ %, Perkin[5]) 6,5—9 γ %.

3. Mit ein und derselben Methode lassen sich bei klinisch diagnostizierten Schilddrüsenerkrankungen nicht von jedem Analytiker Störungen im Jodhaushalt des Organismus erkennen (Löhr[14]), Sturm und Veil[18]), Schittenhelm und Eisler[1]).

4. Analysen von demselben Material, nach verschiedenen Methoden bestimmt, ließen nicht einmal einen prozentualen Zusammenhang erkennen. Möbius[19]) hat z. B. als Quotient $\frac{\text{Pfeifferwert}}{\text{Fellenbergw.}}$ 1,8 bis 3,1 errechnet.

Infolge dieser Tatsachen läßt sich heute die Unmenge der einzelnen Untersuchungsergebnisse für die Physiologie und Pathologie des Jodstoffwechsels nicht mehr vergleichend verwerten. Es erhebt sich daher in letzter Zeit auch in Deutschland von Jodanalytikern die Forderung nach einer einheitlichen Standardmethode, wie sie jetzt in England durch die Arbeit von sieben englischen Chemikern im Auftrag des „Medical Research Council“[20]) ausgearbeitet, Eingang gefunden hat.

Es ist heute die Kardinalfrage: Welches sind die absoluten Blutjodwerte und mit welcher Methode lassen sich dieselben in einwandfreiem Analysengang erhalten? Da jeder Analytiker heute für seine Methode den Anspruch erhebt, die richtigen Blutjodwerte zu erhalten, läßt sich nur durch genaue Kenntnis der Vor- und Nachteile, der Fehler und Fehlermöglichkeiten der einzelnen Bestimmungsmethoden Klarheit in diesen Fragenkomplex bringen. Diese Kenntnis kann nur durch lange Einarbeitung in jede einzelne Methode und durch kritische Untersuchungen erarbeitet werden und aus den Ergebnissen solcher Untersuchungen kann sich dann allmählich eine Standardmethode herauskristallisieren.

Es soll deshalb im Folgenden zu den einzelnen heute wesentlichen Methoden auf Grund von Untersuchungen kritisch Stellung genommen werden. Die Methoden selbst werden als bekannt vorausgesetzt.

1. Methode nach v. Fellenberg[9]).

Von vornherein muß betont werden, daß es die Methode ist, die heute überwiegend in der ganzen Welt ausgeführt wird und auch überall ungefähr dieselben Normalwerte ergibt[21])[22]). Es ist auch nicht ohne Bedeutung, daß heute die englischen Forscher, die sich mit dem Jodproblem beschäftigen und denen sicher auch alle anderen Methoden geläufig sind, auf der v. Fellenbergmethode ihre Standardmethode aufbauen. Wie schon oben erwähnt, wurden auch in unserer Klinik mit dieser Methode übereinstimmende Ergebnisse erzielt; und sie wird auch heute noch an unserer Klinik bei

sämtlichen klinischen Untersuchungen angewandt, über deren Ergebnisse in einer späteren Arbeit berichtet werden soll.

Die Methode verlangt ein Einarbeiten von sehr langer Zeit und eine dauernde Beschäftigung mit ihr, wenn gleichmäßig gute Resultate erzielt werden sollen. Es ist auch nicht jeder Analytiker für diese Methode geeignet. Die Veraschung muß überaus vorsichtig und langsam ausgeführt werden. Wenn v. Fellenberg heute selbst die Veraschung teilweise nach offener Verkokung des Blutes in eine geschlossene Apparatur verlegt, so nicht deshalb, wie vielfach angegeben (vergl. Löhr[14]), Pfeiffer[12]), Schwaibold u. Harder[23]), weil unbedingt bei der offenen Veraschung Verluste eintreten sollen, sondern weil sich „die Anforderungen an die Genauigkeit steigerten und nur in den Händen Geübter die Methode brauchbare Werte liefert". Bei genügender Vorsicht lassen sich Jodverluste, deren Größe von manchem Analytiker sehr beträchtlich gefunden werden (10—90%), auf ein Minimum reduzieren und auf einer gleichmäßig niederen Grenze beschränken, sodaß für die Klinik absolut vergleichbare Werte erhalten werden.

2. *Methode nach Schwaibold*[24]).

Schwaibold hat die ganze Veraschung in ein geschlossenes Rohr verlegt. Da jedoch bei der Veraschung größerer Mengen von Blut immer flüchtige Teerprodukte entstehen, versuchte er die Verbrennung im Sauerstoffstrom, wobei er gleichzeitig auch hinter die Substanz Sauerstoff leitete, damit sicher Sauerstoff immer im Ueberschuß vorhanden ist. Um die trotzdem entstehenden flüchtigen Teerprodukte vollständig zu verbrennen, leitete er die Verbrennungsgase über einen glühenden Platinkontakt.

Trotz aller Vorsichtsmaßnahmen konnten in Gemeinschaftsarbeit mit Schwaibold (Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie München) keine brauchbaren Resultate bei der Veraschung von Blut erhalten werden. Die Adsorptionsflüssigkeit färbte sich endweder infolge übergehender Teerprodukte dunkel, sodaß doch eine offene Erhitzung des Rückstandes der eingedampften Adsorptionsflüssigkeit angeschlossen werden mußte oder es störten die in ihr gelösten Nitrite, die auch durch Vorschalten einer Vorlage mit Natriumacid (vergl. auch Reith[25]) nicht quantitativ entfernt werden konnten. Um die Bildung von Nitriten zu verhindern, wurde folgendes versucht:

Das Blut wurde durch Erhitzen auf dem Wasserbad mit einigen Blättchen Natriumhydroxyd einige Stunden lang hydrolysiert. Dabei wird der größte Teil des im Blut vorhandenen Stickstoffs als Ammoniak abgespalten und dieser verflüchtigt sich bei der anschließenden Verdampfung der Flüssigkeit im Verbrennungsschiffchen zur Trockene. Außerdem werden hochmolekulare Verbindungen in kleinere Bruchstücke zerlegt, und es bestand dabei die Hoffnung, daß diese sich anschließend leichter veraschen lassen.

Trotz dieser Vorbehandlung konnte bei der Veraschung im Rohr das Ueberdestillieren von Teerprodukten, wenn auch noch so vorsichtig und langsam verbrannt wurde, nicht verhindert werden. Wie von Fellenberg auf Grund seiner Versuche in dieser Richtung die Verbrennungsmethode nach Schwaibold ablehnte, müssen auch wir diese Methode zur Bestimmung des Blutjodes als undurchführbar bezeichnen. Es soll dabei nicht bestritten werden, daß sie für anderes Material geeignet sein kann; wir haben z. B. bei Analysen von Schilddrüsensubstanz Werte erhalten, die sehr gut mit Vergleichsanalysen nach v. Fellenberg übereinstimmten.

3. Methode nach Pfeiffer.

In unserem Laboratorium haben wir sämtliche klinische Untersuchungen neben der Methode nach v. Fellenberg auch noch nach einer Modifikation der Pfeiffermethode durchgeführt, die von Lücker[16]) angegeben ist.

Die Abänderungen gegenüber der Original-Pfeiffermethode, die in Kontrollbestimmungen bei uns dieselben Resultate wie nach der Lücker'schen Modifikation ergab, bestehen darin, daß die Verbrennungsgase durch ein 85 cm langes und 1,5 cm weites Quarzrohr geleitet werden, das durch zwei elektrische Mantelöfen auf Rotglut erhitzt wird. Die Gase werden dann in drei Adsorptionsflaschen geleitet, die absteigende Mengen Pottaschelösung enthalten.

Auf Grund unserer Erfahrungen mit dieser Methode müssen wir betonen, daß auch hier die Verbrennung möglichst langsam geleitet werden muß, damit keine organischen Verbindungen in die Adsorptionsflaschen gelangen. Bei Berücksichtigung dieser Tatsache war es uns möglich, die zur Trockene verdampften Adsorptionsflüssigkeiten ohne vorhergehendes vorsichtiges Erhitzen über dem Sparbrenner, wie es die Originalvorschrift verlangt, sofort mit 90% Alkohol ausziehen zu können. Die Normalblutjodwerte, die wir mit dieser Arbeitsmethode erhielten, beträgt bei Gesunden $22 \pm 4\gamma$%, liegen also niedriger, als sie von Pfeiffer[12]) selbst, Möbius[25]) und Nolte, Lücker[16]), Fasold[26]), Widmann[17]) erhalten werden. In Kontrollbestimmungen war natürlich des öfteren die zur Trockene verdampfte Pottaschelösung vorsichtig über kleingestellter Flamme erhitzt worden. Es konnte dabei aber niemals eine Dunkelfärbung des Pottascherückstandes beobachtet werden, sodaß mit Sicherheit angenommen werden kann, daß bei richtiger Durchführung der Veraschung die Adsorptionsflüssigkeit keine organische Substanz enthält.

Damit soll nichts darüber ausgesagt sein, ob diese Werte nur aus Jod bestehen oder ob bei dieser Bestimmungsmethode gleichmäßig eine jodvortäuschende Substanz mitbestimmt wird, wodurch die gegenüber den v. Fellenbergwerten um 150% höheren Werte erhalten werden. Diese Möglichkeit läßt sich nur durch Kontrolle

dieser Werte mit einer auf Jod spezifischen Bestimmungsmethode ausschließen. Ueber Versuche in dieser Hinsicht wird später berichtet werden.

Es soll hier noch auf eine Fehlermöglichkeit aufmerksam gemacht werden, die sich bei der Aufarbeitung des Pottascherückstandes, den man nach dem Verdampfen der Adsorptionsflüssigkeit erhält, ergeben kann. Der Pottascherückstand wird nach der Vorschrift mit 96%igem Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung mit 1 ccm Pottaschelösung zur Trockene verdampft und dieser Pottascherückstand nach dem Anfeuchten mit Wasser wiederum mit Alkohol extrahiert. Löste sich bei dieser Extraktion zu viel Pottasche im Alkohol, weil entweder zu niedrigprozentiger Alkohol verwendet wurde, oder der Rückstand mit zu viel Wasser angefeuchtet worden war, so wurden von uns bei der Gehaltsbestimmung des in Wasser aufgenommenen Alkoholrückstandes (im Gegensatz zu Schwaibold[27]) zu hohe Jodwerte erhalten.

Es seien hier einige Modellversuche angeführt, bei denen wir zu Kaliumjodidlösungen mit bekanntem Jodgehalt gesättigte Pottaschelösung zugefügt haben:

Jodgehalt der Versuchslösung	ohne Zusatz	+ 1 Tr. Pottaschelg. + 6 Tr. 50% H_2SO_4	+ 4 Tr. Pottaschelg. + 10 Tr. H_2SO_4
2 γ	2,07 γ J	2,24 γ J	2,14 γ J
	2,11	2,22	2,50
		2,14	
		2,25	
3 γ	3,12	3,15	3,22
	2,97	3,06	3,15
	2,90		3,15

Wurde nach dem Zusetzen von Pottaschelösung zu schwach mit Schwefelsäure angesäuert, so wurden nach der Oxydation mit Bromwasser bei der Titration viel zu hohe Werte gefunden:

	1 Tr. Pottaschelg. + 3 Tr. Schwefels.	4 Tr. Pottaschelg. + 5 Tr. Schwefels.
2 γ	4,35	5,65
	5,3	4,5
3 γ	5,4	4,25
	7,9	3,74
	6,25	

Es ist durchaus möglich, daß größere Mengen Karbonate durch Entwicklung von viel Kohlendioxyd zu Verlusten führen, wie Schwaibold auf Grund seiner Versuche feststellen konnte, dann wird eben

von der konzentrierten Salzlösung Brom in Spuren trotz des Kochens der Flüssigkeit in derselben zurückgehalten und dieses täuscht einen erhöhten Jodgehalt vor. Bei den zuletzt angeführten Modellversuchen war auch durch wesentlich längeres Kochen der Flüssigkeit kein der vorgelegten Jodmenge entsprechendes Resultat zu erzielen.

Es ist demnach bei der Alkoholextraktion darauf zu achten, daß sich im Alkohol außer dem Kaliumjodid möglichst wenig Salze lösen, da diese bei der späteren Titration nur stören können.

4. Methode nach Leipert[13]).

Nach dieser Methode wird die organische Substanz durch einen Ueberschuß an Chromsäure als Oxydationsmittel in stark schwefelsaurer Lösung oxydiert. Bei Vergleich der chemischen Vorgänge, wie sie bei den Methoden nach Leipert und nach Pfeiffer ablaufen, fiel folgende Tatsache auf:

Bei der Pfeiffermethode wird nur soviel Oxydationsmittel (Perhydrol) zu der Veraschungsflüssigkeit zugefügt, daß keine zu starke Reduktion der Schwefelsäure durch die sich oxydierende organische Substanz vor sich geht, und nach eigenen Angaben von Pfeiffer ist nur durch vorschriftsmäßigen Ablauf von Reduktionsprozessen eine quantitative Destillation des Jodes in die Vorlagen möglich. Auch wir haben bei Leerbestimmungen mit Glykokoll, bei denen KJ zur Veraschungsflüssigkeit zugesetzt worden war, feststellen müssen, daß sich das zugesetzte Jod nicht immer quantitativ überdestillieren läßt, da Glykokoll zu geringe Reduktionskraft besitzt. Bei der Leipertmethode wird von vornherein das Oxydationsmittel (Chromsäure) im Ueberschuß zugegeben. Nun wird aber Chromsäure schon bei verhältnismäßig niederer Temperatur unter Sauerstoffabgabe zu 3-wertigem Chromsalz reduziert; ja, man kann bereits bei Beginn der Oxydation der organischen Substanz, die beim Zusetzen der ersten Schwefelsäureanteile unter Selbsterwärmung eintritt, eine Zersetzung der Chromsäure beobachten, die sicher durch die katalytische Wirkung des zugesetzten Cerisulfats begünstigt wird, wenn die Flüssigkeit nicht dauernd unter der Wasserleitung gekühlt wird. Wir legten uns folgende Fragen vor:

1. Ob die Chromsäure infolge Oxydation und Zersetzung nach der vollständigen Verbrennung der organischen Substanz verbraucht ist oder bereits vorher?

Im ersteren Falle müßte nach vollkommener Zersetzung der Chromsäure noch vorhandene organische Substanz wie bei der Pfeiffer-Methode das entstandene Jodat zu Jodwasserstoff zu reduzieren vermögen und somit Jodverluste eintreten.

2. Gelangten dann auch nur geringe Mengen dieser unveraschten organischen Substanz bis in die Titrationsflüssigkeit, so war hier wiederum eine Verfälschung der titrierten Jodwerte möglich.

Zur Untersuchung, ob durch die zugesetzte Menge Chromsäure die organische Substanz des Blutes quantitativ zerstört wird, genügt die Durchführung der Methode mit folgender Abänderung, daß nämlich nach der Oxydation der organischen Substanz des Blutes die kondensierten Dämpfe der Wasserdampfdestillation nicht in der von Leipert angegebenen Vorlage, die Natronlauge und schweflige Säure enthält, aufgefangen wird, sondern in einer, der einige ccm gesättigte Pottaschelösung zugesetzt sind. Die Adsorptionsflüssigkeit wird in einer Quarzschale auf dem Sandbad zur Trockene eingedampft und der Rückstand über einem Sparbrenner vorsichtig erhitzt. Dabei ergab sich bei allen Analysen, daß sich der Rückstand infolge Verkohlung von organischer Substanz dunkler färbte. Auch wenn die Oxydation mit größerem Ueberschuß an Oxydationsmittel und vorsichtiger durchgeführt wurde, färbte sich nach der Wasserdampfdestillation der Rückstand beim Erhitzen so gut wie immer dunkler:

Es wurden zu 10 ccm Citratblut a) 20 ccm, b) 30 ccm conzentrierte Chromsäurelösung (1 ccm enthält mindestens 1 g Chromsäure) zugefügt, und nun unter Kühlung in Eismischung 100—120 ccm conc. Schwefelsäure langsam zugegeben, damit von Beginn der nun einsetzenden Oxydation die volle Schwefelsäuremenge wirksam sein kann, und auch möglichst wenig Chromsäure sich zersetzt, ohne oxydativ wirksam zu sein. Wurde nun diese Mischung unter öfterem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen, so erwärmte sich die Flüssigkeit langsam, jedoch nie so stark, daß stärkere Bläschenentwicklung eintrat. Man sah jedoch ganz genau an der Farbänderung, daß sich die organische Substanz langsam oxydierte. Als die Reaktion dann aufhörte, wurde die Flüssigkeit, die noch genügend Chromsäure im Ueberschuß enthielt, was an der roten Farbe der Lösung zu sehen war, ganz langsam und vorsichtig auf dem Babotrichter erhitzt, später bis zum beginnenden Kochen der Flüssigkeit.

Damit ist erwiesen, daß eine quantitative Veraschung der organischen Substanz des Blutes mittels Chromsäure nicht erreicht wird. Leipert[29]) gibt diese Tatsache in seiner letzten Veröffentlichung selbst zu und läßt die Veraschungsflüssigkeit vor der Reduktion mit Arseniger Säure „zur Reinigung von Spuren störender Substanzen wie Chromylchlorid, Chlor, Brom, Essigsäure 5—10 Minuten einer Wasserdampfdestillation im Vakuum unterwerfen“ und führt dann erst die Reduktion durch.

Bei den von uns ausgeführten Analysen erreichten wir, daß wenigstens die Titrationsflüssigkeit unbedingt frei von organischer Substanz war. Wir verfuhren folgendermaßen: Nachdem der Rückstand der Adsorptionsflüssigkeit vorsichtig über dem Sparbrenner erhitzt worden war, wurde derselbe nach dem Befeuchten mit Wasser mit Alkohol 90%ig erschöpfend ausgezogen, und der Alkoholrück-

stand im Platintiegel nochmals kurz durch die Flamme gezogen. Jetzt wurde in Wasser aufgenommen, die Lösung mit Bromwasser oxydiert und titriert. Es wurden ungefähr dieselben Werte gefunden, wie sie andere Analytiker mit derselben Methode angeben und bei Doppelanalysen ziemlich gute Uebereinstimmung erhalten:

Blut A:	13,8	15,0	16,3 γ %				
Blut B:	18,0	24,5	18,3	19,8	19,3	17,8	19,5 γ %
Blut C:	13,9	14,7 γ %					
Blut D:	16,8	10,2 γ %					

Bei Vergleichsanalysen mit der Methode nach Fellenberg wurden folgende Werte erhalten:

	Leipert: in γ %	Fellenberg: in γ %
Blut I:	14,8	13,3
Blut II:	15,3	13,5
Blut III:	13,6	15,2
Blut IV:	20,8	22,0

Unsere Versuche mit der Leipert-Methode führten demnach zu folgendem Ergebnis:

1. Es tritt bei dieser Methode trotz erdenklichr Vorsicht niemals quantitative Veraschung der organischen Substanz des Blutes ein, weil eben, ehe die zur Oxydation notwendige Temperatur erreicht ist, der Ueberschuß an Chromsäure bereits zerstört ist. Ob in jedem Fall die restliche unverbrannte organische Substanz noch soviel Reduktionskraft besitzt, daß eine Verflüchtigung des Jodes, wie sie bei der Pfeiffermethode vor sich gehen muß, eintritt, wird in den einzelnen Bestimmungen verschieden sein. Aber ein auch nur geringer Jodverlust ist nicht auszuschließen. Pfeiffer[12]) findet, wenn er Blut nach der Methode von Leipert in seiner eigenen Apparatur verascht, in der Adsorptionsflüssigkeit einen großen Teil des vorgelegten Jodes wieder, während Sturm[28]) bei gleicher Versuchsanordnung in den Vorlagen, deren Inhalt er nach Leipert nochmals verascht, kein Jod nachweisen kann.

2. Ein Teil der unverbrannten organischen Substanz destilliert mit Wasserdampf in die Adsorptionsflüssigkeit über. Wird die von Leipert angegebene Adsorptionsflüssigkeit angewandt, muß dieselbe nach der Destillation immer geringe Mengen organischer Substanz enthalten, die bei der Titration Jod vortäuschen können. In einem Teil der Analysen werden demnach sicher die erhaltenen Werte nicht den wirklichen Jodwerten entsprechen.

Wir stehen übrigens mit der Forderung, daß die Titrationsflüssigkeit frei von organischer Substanz sein muß, nicht allein:

Sturm selbst schreibt: „Es ist eine unerläßliche Vorbedingung, daß durch sorgfältigste Veraschung der organischen Substanz ein völliges Fehlen derselben gewährleistet wird." Ebenso Lücker auf Grund von Modellversuchen: „... ist ersichtlich, wie wichtig es ist, organische Substanz restlos zu zerstören".

Es konnte demnach von uns den mit dieser Methode erhaltenen Werten nicht die entscheidende Bedeutung beigemessen werden, daß sie gegenüber den Pfeiffer-Werten die absoluten Blutjodwerte bedeuten, nur weil sie den Fellenberg-Werten entsprechen.

5. *Methode nach Döring.*

Nun hat Döring vor kurzer Zeit eine Methode angegeben, die auf der Veraschung des organischen Materials mittels Salpetersäure im Bombenrohr beruht. Vom theoretischen Standpunkt aus sind die Methode und die mit ihr erhaltenen Werte bereits kritisch untersucht worden[15]). Daß die Verarbeitung von 5 ccm Blut nie brauchbare Werte liefern kann, da die Fehlergrenze bei der Titration in dieser Größenordnung viel zu hoch wird, die Methode wegen ihrer Umständlichkeit auch niemals Eingang in die klinischen Untersuchungsmethoden finden wird, haben wir von Anfang an gewußt. Aber wenn die bei der Methode angegebenen chemischen Reaktionen quantitativ verlaufen, dann mußten bei Verarbeitung von zwei Bombenröhren Werte erhalten werden, die bei der Frage nach den absoluten Blutjodwerten hätten von Bedeutung sein können. Denn eine Störung der Titration durch organische Substanz war hier ausgeschlossen.

In Vorversuchen stellten wir fest, daß eine Unterbrechung des Erhitzens der Bombenröhren bei 150 Grad C. nicht notwendig ist, wenn das Blut vorher mit einem Plättchen KOH in einem Verbrennungsschiffchen zur Trockene verdampft und das Bombenrohr nach dem Zuschmelzen ganz langsam innerhalb 24 Stunden auf 250 bis 280 Grad erhitzt wurde. Enttäuscht wurden wir aber, als wir die von Döring selbst angegebenen Modellversuche nachmachten, die ihn nach seiner Angabe als KJ vorgelegtes Jod bei der Titration quantitativ wiederfinden ließen.

Es wurden 0—40 γ Jod als KJ mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gemischt und nach Ansäuerung mit Salpetersäure die Silberhalogenide ausgefällt. Nach dem Zusammenballen des Niederschlages durch Erhitzen auf dem Wasserbad wurde letzterer abfiltriert, ausgewaschen und dann mit Zinkstaub umgesetzt. Die Mischung wurde 10 Minuten ins kochende Wasserbad gesetzt, dann filtriert, und im Filtrat der Gehalt an Jod nach Winkler titriert.

Döring macht allerdings selbst eine Einschränkung, daß nicht jeder Zinkstaub für die Umsetznug von Silberhalogenid zu Zinkhalogenid brauchbar wäre. Da die verschiedene Brauchbarkeit des Zinkstaubes in der organischen Chemie bekannt ist, haben wir alle

möglichen Sorten von Zinkstaub, feineren wie gröberen, schon länger bei uns lagernden wie ganz frisch von Merck-Darmstadt bezogenen analysenreinen, verwendet, die Zeiten des Erhitzens, die Mengen der Zusätze variiert, aber niemals ließ sich die vorgelegte Jodmenge auch nur annähernd wiederfinden. Wir erklärten uns das Versagen damit, daß einerseits evt. nicht die ganze Menge Silberjodid adsorptiv am Silberchloridniederschlag ausgefällt wird, daß andererseits Jod zum größten Teil an der versilberten Oberfläche des Zinkstaubes (denn durch die Umsetzung tritt doch eine feine Abscheidung von metallischem Silber ein) adsorptiv festgehalten wird. Die überaus starke Oberflächenaktivität von fein verteiltem Silber ist ja in der Medizin und Chemie bekannt. Beispiele:

Jodgehalt der Versuchslösung	wiedergefunden
10 γ	0,75; 1,26; 3,4; 0. γ Jod
12 γ	6,8 γ „
20 γ	1,2; 0,5; 0 γ „
36 γ	3,8; 6,7 γ „
48 γ	8,8; 15,6 γ „

Eine Umsetzung des Halogenniederschlags auf anderem Wege führte auch zu keinem Ziel, sodaß über diese Versuche hier nicht berichtet werden soll.

Konnten diese Versuche mit der Methode Döring zu keinem Ergebnis führen, so lag doch der Gedanke nahe, Blut im Bombenrohr mit einem anderen Oxydationsmittel quantitativ zu veraschen. Das im Blut enthaltene Jod wurde dabei zu Jodat oxydiert und konnte nach der Reduktion mit arseniger Säure und Destillation in der Leipertapparatur in der Adsorptionsflüssigkeit bestimmt werden. Eine direkte Bestimmung des Jods in der Veraschungsflüssigkeit kommt ja wegen des Eisengehaltes des Blutes nicht in Frage, da dieses auf keine chemische Methode absolut quantitativ entfernt werden kann und die letzten in Lösung bleibenden Anteile bei der titrimetrischen Bestimmung des Jodes mit Natriumthiosulfat Jod vortäuschen.

Wir versuchten zuerst eine Veraschung im Alkalischen: Durch Zusatz von Natriumperoxyd zu getrocknetem Blut war eine Veraschung des Blutes im Bombenrohr nicht möglich, da die Reaktion erst bei ziemlich hoher Temperatur und dann explosionsartig eintritt.

Eine quantitative Veraschung des Blutes mit Salpetersäure im Bombenrohr gelingt, wie oben schon erwähnt, aber bei der Weiterbehandlung nach der Veraschung stört die in der Flüssigkeit gelöste salpetrige Säure (s. oben). Wir versuchten nun die Veraschung im Bombenrohr mit Chlor zu erreichen, das im Rohr nach dem Zuschmelzen aus Kaliumchlorat und Salzsäure entwickelt wurde.

6 ccm Blut wurden mit einem Blättchen KOH auf einem Verbrennungsschiffchen getrocknet und samt dem Schiffchen ins Rohr gebracht. Dazu wurden 10 ccm 38%ige Salzsäure und in einem Präparatenglas getrennt 5,0 gr $KClO_3$ zugegeben. Die Röhre wurde sofort zugeschmolzen und nun langsam innerhalb 48 Stunden auf 250 Grad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Röhre geöffnet. Dabei entwich noch Chlorgas, sodaß sicher Chlor als Oxydationsmittel während des Erhitzens im Ueberschuß vorhanden war. Die Flüssigkeit im Bombenrohr war vollkommen klar, vom gelösten Chlor grüngelb gefärbt. Nur am Boden des Bombenrohrs befanden sich außer auskristallisierten Salzen einige zusammengeballte harzige hellgefärbte Körnchen, die anscheinend trotz des hohen Innendrucks und der hohen Temperatur von dem im Ueberschuß vorhandenen Chlor nicht mehr angegriffen werden konnten. Dieselben wurden abfiltriert, die Röhre und das Filter gut nachgespült. Das Filtrat wurde durch Kochen in einem Becherglas eingeengt, um gleichzeitig das gelöste Chlor zu verjagen, andererseits um auch evt. nicht zersetztes Chlorat quantitativ zu zerstören. Die klare Lösung wurde dann in den Destillationskolben der Leipertapparatur übergespült und wie oben bei der Besprechung der Leipertmethode angegeben, weiterverarbeitet. Im Pottascherückstand konnte bei Erhitzung über freier Flamme keine beigemengte organische Substanz festgestellt werden.

Die Normalwerte, die bei der Titration erhalten wurden, bewegten sich um 44 γ%. Diese Werte liegen überaus hoch und es ist die Frage, ob sich bei dem Versuch durch Kochen das gelöste Chlor aus der konzentrierten Salzlösung der Veraschungsflüssigkeit vollkommen entfernen läßt oder komplex gebunden in ihr zurückgehalten und sich dann Spuren davon mit Wasserdampf überdestillieren lassen und bis in die Titrationsflüssigkeit gelangen. Da außerdem bei dieser Methode doch nicht die organische Substanz quantitativ zerstört werden konnte, wurde den erhaltenen Werten kein entscheidendes Gewicht beigelegt und die Versuche nicht weitergeführt.

Mit diesen Untersuchungen konnte also der Unterschied in den Blutjodwerten, wie sie einerseits von Fellenberg, andererseits von Pfeiffer erhalten werden, nicht geklärt werden. Ueber weitere Untersuchungen in dieser Richtung soll später berichtet werden.

Zum Schluß noch eine Bemerkung zur Titration des Jodes nach Winkler. Fast alle Analytiker verwenden zur Titration der Gammawerte n/500—n/1000 Natriumthiosulfatlösung. Normalerweise wird in der analytischen Chemie der Titer einer Thiosulfatlösung durch Titration gegen Natriumjodatlösung bestimmt. Bei der angegebenen starken Verdünnung der Lösungen führt aber eine derartige Einstellung der Lösungen zu falschen Ergebnissen. Wurde eine n/200 Thiosulfatlösung und eine n/200 Natriumjodatlösung, die beide gegeneinander genau eingestellt waren, 1:5 mit doppeltdestilliertem Wasser verdünnt und nun die n/1000 Lösungen mit der Mikrobürette gegeneinander titriert, so wurden von 0,1 ccm Natriumjodatlösung 0,083 ccm Natriumthiosulfatlösung verbraucht. Danach errechnet sich für die Thiosulfatlösung ein Faktor von f = 1,211. Daß ein fehlerhaftes Arbeiten unsererseits nicht vorliegt, wurde folgender-

a) Die Fellenbergmethode führt bei richtiger Handhabung und in der Hand eines geeigneten Analytikers zu für die Klinik durchaus verwertbaren Ergebnissen.

b) Die Methode nach Schwaibold wird für die Bestimmung des Blutjodgehaltes abgelehnt.

c) Mit der Pfeiffermethode (Modifikation nach Lücker) werden brauchbare Werte erhalten, die niedriger liegen, als sie andere Analytiker mit dieser Methode finden. Der Normalwert bei gesunden Frauen und Männern beträgt $22 \pm 4\gamma\,\%$. Bei Aufarbeitung des Pottascherückstandes muß dafür gesorgt werden, daß durch die Extraktion mit Alkohol möglichst wenig Pottasche in die Titrationsflüssigkeit gelangt, da sonst zu hohe Jodwerte erhalten werden.

d) Es wird gezeigt, daß bei der Methode nach Leipert die organische Substanz des Blutes durch Chromsäure nicht quantitativ zerstört wird, die unverbrannte organische Substanz kann 1. in der Veraschungsflüssigkeit zu Jodverlusten führen, 2. gelangt sie durch die Wasserdampfdestillation in die Titrationsflüssigkeit, kann sie nach Anlagerung von Brom bei der Titration zu hohe Blutjodwerte vortäuschen. Die zweite Fehlermöglichkeit kann vermieden werden, wenn die Destillationsflüssigkeit in Pottaschelösung aufgefangen wird und im Pottascherückstand durch vorsichtiges Erhitzen die mitüberdestillierte organische Substanz zerstört wird.

e) Bei Nachprüfung der Methode nach Döring wird festgestellt, daß die angegebenen chemischen Reaktionen nicht quantitativ verlaufen und dadurch niemals, auch nicht bei Verarbeitung der doppelten Menge Bluts in zwei Bombenröhren, brauchbare Werte erhalten werden können.

3. Weitere Versuche, eine quantitative Veraschung von Blut mit Chlor im Bombenrohr zu erreichen, führten zu keinem brauchbaren Ergebnis. Es wurden Werte erhalten, die höher als alle bisher mit anderen Methoden gefundenen liegen. Die angegebene Methode kann daher nicht für die Klärung der Frage nach den absoluten Blutjodwerten von Bedeutung sein.

4. Es wird gezeigt, daß die Titerbestimmung einer n/1000 Natriumthiosulfatlösung durch Titration gegen n/1000 Natriumjodatlösung zu fehlerhaften Ergebnissen führen muß.

5. Es wird verlangt, daß bei jeder Titration von Analysenserien durch Titration von KJ-Lösungen mit bekanntem Jodgehalt der Titer der n/1000 Thiosulfatlösung neu bestimmt wird.

Herrn Professor Dr. A. Schittenhelm sei auch an dieser Stelle für die Ueberlassung des Themas und die gütige Uebernahme des Referats bestens gedankt.

*

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchte ich für die finanzielle Unterstützung, die die Ausführung der vorliegenden Arbeit ermöglichte, aufrichtig Dank sagen.

Literatur.

1) *Schittenhelm* u. *Eisler:* Z. f. ges. exp. Med. 86, 275, 290, 294, 310, 360. 368 (1933).
2) *R. G. Turner:* J. biol. Chemistry 88, 497 (1931).
3) *H. A. S. Aitken:* Biochem. Journ. 24, 1456 (1930).
4) *E. Baumann* u. *N. Metzger:* Journ. biol. Chemistry 98, 405 (1932).
5) *Perkin:* Biochem. Journ. 27, 1078 (1933); *Perkin* u. *Catell:* Newyork Stat. Journ. of Med. 36, 1033 (1936).
6) *Hamilton:* J. Am. chem. Soc. 58, 1592 (1936).
7) *Mc. Cullag:* J. of biol. chem. 107, 35 (1934).
8) *Döring:* Klin. Wschr. 1936, S. 1010.
9) *v. Fellenberg:* Biochem. Z. 139, 420 (1923), 152, 116 (1924), 224, 170 (1930); Erg. d. Physiologie 25, 176 (1926).
10) *I. Bellucci* u. *R. Vigni:* Gazz. chim. Ital. 64, 634 (1934).
11) *G. Nunez* u. *P. Regidor:* An. Soc. Espan. Fisic. Quim. 33, 445 (1935).
12) *Pfeiffer:* Biochem. Z. 195, 128 (1928), 201, 298 (1928), 210, 231 (1929). 215, 128 (1929), 228, 148 (1930), 231, 244 (1931), 241, 280 (1931), 256, 214 (1932); Naunyn Schmiedebergs Archiv: 181, 444 (1936).
13) *Leipert:* Pregl Festschrift 1929, 266; Biochem. Z. 193, 98 (1928).
14) *H. Löhr:* Naunyn Schmiedebergs Archiv: 180, 332 (1936).
15) *Wilmanns:* Biochem. Z. 289, 41 (1936).
16) *Lücker:* Deutsch. A. f. klin. Med. 175, 681 (1933).
17) *Widmann:* Klin. Wschr. 1932, S. 1761; Biochem. Z. 254, 223 (1932).
18) *Veil* u. *Sturm:* D. Arch. f. klin. Med. 147, 166.
19) *Möbius:* Biochem. Z. 253, 275 (1932).
20) *Sturm:* A. Klin. Wschr. 1931, S. 1649.
21) *Davis* u. *Curtis:* Journ. lab. chim. med. 18, 24 (1932).
22) *Kaizo Mitsui:* Journ. pharmac. Soc. Japan, 52, 61 (1932).
23) *Schwaibold* u. *Harder:* Biochem. Z. 240, 441 (1931).
24) *Schwaibold:* Biochem. Z. 240, 441 (1931), 261, 436 (1933).
25) *Möbius* u. *Nolte:* Z. f. klin. Med. 128, 174 (1935).
26) *Fasold:* Monatsschr. f. Kinderheilk. 62, 28 (1934).
27) *Schwaibold:* Z. f. anal. Chemie 78, 167 (1929).
28) *Sturm:* Biochem. Z. 280, 404 (1935).
29) *Leipert:* Biochem. Z. 293, 99 (1937).

Lebenslauf.

Ich, Hans Walter Vöhringer, wurde am 15. Januar 1908 in Brackenheim in Württbg. als Sohn des Pfarrers Ludwig Vöhringer geboren. Ich besuchte die Gymnasien in Reutlingen, Schorndorf, Eßlingen und Ulm. In Ulm absolvierte ich 1926. Nach drei Jahren Apothekertätigkeit studierte ich im ersten Semester nur Pharmazie, vom zweiten Semester ab Pharmazie und Medizin.

April 1931 bestand ich mit „sehr gut" das Pharmazeutische Staatsexamen, November 1933 promovierte ich in Kiel mit einer chemisch-synthetischen Doktorarbeit mit „sehr gut" zum Dr. phil. Dezember 1935 bestand ich nach 13 Semester Studium in München das medizinische Staatsexamen mit „gut". Anschließend war ich als Medizinalpraktikant in der II. medizinischen Klinik bei Herrn Professor Dr. A. Schittenhelm. Seit Dezember 1936 bin ich als Volontärassistent in derselben Klinik beschäftigt. Seit 1. Febr. 1936 erhalte ich ein Stipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft in Berlin.